

## **Определение кофеина в напитках методом вольтамперометрии на углеродсодержащих электродах, модифицированных арилдиазониевыми солями**

**Е.В. Дорошко, \*А.О. Гусар, Е.А. Бедарева, Г.Б. Слепченко, М.Е. Трусова,  
Е.И. Короткова**

*Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Российская Федерация,  
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30*

*\*Адрес для переписки: Гусар Анна Олеговна, e-mail: anngsa@mail.ru*

Поступила в редакцию 11 октября 2019 г., после доработки – 17 февраля 2020 г.

Предложен способ модификации углеродсодержащих электродов (УСЭ) тозилатными солями арендиазония (АДТ) с нитро- и карбоксизаместителями для вольтамперометрического (ВА) определения кофеина в напитках. Впервые проведено сравнение спонтанного химического и электрохимического способов модификации УСЭ АДТ для ВА определения кофеина. Новый класс АДТ обладает хорошей растворимостью, стабильностью в течение одного месяца, что играет немаловажную роль в процессе модификации поверхностей электродов. Подобраны оптимальные условия спонтанной химической модификации УСЭ: модификатор АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем, время погружения электрода в раствор модификатора – 10 с, концентрация модификатора – 5 мг/дм<sup>3</sup>. Методами инфракрасной спектроскопии (ИК-спектроскопии) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) подтверждено закрепление АДТ на поверхности УСЭ с образованием ковалентных связей между атомами углерода электродной поверхности и бензольными кольцами модификатора. Показано, что после модификации площадь электроактивной поверхности увеличивается в два раза. В результате этого наблюдается возрастание чувствительности определения кофеина с пределом обнаружения 51 мг/дм<sup>3</sup> и расширение диапазона определяемых концентраций: 154-500 мг/дм<sup>3</sup>. При использовании модифицированного электрода время анализа сократилось до 15 минут. Кроме этого, наблюдалась стабильность поверхности электрода без обновления в течение недели. При апробации пригодности для аналитических целей УСЭ, модифицированного АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем, проведено определение кофеина в некоторых тонизирующих и газированных напитках. Полученные значения содержания кофеина в напитках разработанным методом с использованием УСЭ, модифицированного спонтанным химическим способом АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем, наглядно демонстрируют соответствие значениям, заявленным производителем, а также согласуются с результатами независимого спектрофотометрического метода.

**Ключевые слова:** кофеин, ароматические соли диазония, модификатор, углеродсодержащий электрод, вольтамперометрия, спонтанная модификация, СЭМ, ИК-спектроскопия, циклическая вольтамперометрия.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2020, vol. 24, no. 1, pp. 56-65

DOI: 10.15826/analitika.2020.24.1.007

## **Caffeine determination in beverages by voltammetry with the carbon-containing electrodes modified with aryldiazonium salts**

**E.V. Dorozhko, \*A.O. Gusar, E.A. Bedareva, G.B. Slepchenko, M.E. Trusova,  
E.I. Korotkova**

*National Research Tomsk Polytechnic University, Lenina prosp., 30, Tomsk, 634050, Russian Federation*

*\*Corresponding author: Anna O. Gusar, e-mail: anngsa@mail.ru*

Submitted 11 October 2019, received in revised form 17 February 2020

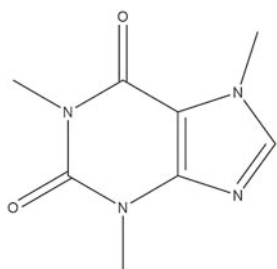
The method of carbon containing electrode (**CCE**) modification with tosylated arendiazonium salts (**ADT**) was proposed for the voltammetric (**VA**) determination of caffeine in beverages. The comparison of chemical spontaneous and electrochemical modification approaches was carried out for ADT modified CCE for VA caffeine determination for the first time. A new class of ADT is characterized by high solubility and stability for one month that plays significant role in the process of electrode surface modification. Salts with nitro and carboxy substituents were tested. The optimal conditions for the spontaneous chemical modification of the CCE were selected: ADT modifier with  $\text{NO}_2$  substituent, electrode immersion time in the modifier solution for 10 seconds, modifier concentration of  $5 \text{ mg} / \text{dm}^3$ . ADT deposition on the electrode surface was confirmed by the IR spectroscopy and scanning electron microscopy with the formation of covalent bonds between the carbon atoms of electrode surface and the benzene rings of the modifier. It was shown that the electroactive surface area increases by two times after the modification. Consequently, the technique sensitivity increasing the detection limit of  $51 \text{ mg} / \text{dm}^3$  and linear range extension from 154 up to  $500 \text{ mg} / \text{dm}^3$  was observed. While applying the modified electrode, the analysis time was reduced to 15 minutes. Furthermore, the suitability of CCE modified with  $\text{NO}_2$  substituent was tested for the analytical purposes. As a result, the caffeine was determined in some tonic and carbonated drinks. The comparison of the results obtained by the proposed method with ADT modified CCE and the level declared by the manufacturer was carried out. The high compliance was established. In addition, the obtained data was consistent with the results by the independent spectrophotometric method.

**Keywords:** caffeine, diazonium aromatic salts, modifier, carbon-containing electrode, voltammetry, spontaneous modification, SEM, IR spectroscopy, cyclic voltammetry.

## ВВЕДЕНИЕ

В связи с расширением ассортимента тонирующих и газированных напитков и увеличением их потребления, возникает необходимость оценки в них содержания кофеина, что позволит контролировать его поступление в организм человека. Кофеин (рис. 1) представляет собой природный алкалоид, относящийся к N-метильным производным ксантина. Из-за высокой популярности кофе и других продуктов, содержащих кофеин (кока-кола, чай, энергетические напитки, какао, шоколад), это наиболее часто употребляемое вещество в повседневной жизни человека [1]. Кофеин в больших дозах в организме человека может вызывать дрожь, тошноту, гиперактивность, судороги, развитие сердечно-сосудистых заболеваний, нарушения функции почек [2]. Кроме того, кофеин применяется в качестве болеутоляющего препарата при головных болях, а также в ходе восстановительного периода после родов и хирургического вмешательства [3].

Наиболее распространенными аналитическими методами для определения кофеина в напитках и фармацевтических препаратах являются жидкостная хроматография (**ВЭЖХ**) [4], спектрофотометрия [5],



**Рис. 1.** Структурная формула кофеина (3,7-дигидро-1,3,7-триметил-1Н-пурин-2,6-дион).

**Fig. 1.** Chemical structure of caffeine (3,7-dihydro-1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6-dione).

капиллярный электрофорез [6]. Разработанные в настоящее время аналитические методы определения кофеина [4-6] трудоемки, осложнены длительной подготовкой пробы к анализу. Как отмечают авторы работы [4], при использовании метода ВЭЖХ необходимы высокие требования к квалификации персонала и уровню обслуживания оборудования.

Перспективными, на наш взгляд, являются электрохимические методы определения кофеина в напитках [7]. В последнее время появился ряд работ, связанных с определением кофеина в тонирующих напитках методом вольтамперометрии (**ВА**) на модифицированных электродах (табл. 1). Очевидно, что новые электродные модификаторы улучшают некоторые метрологические характеристики ВА определения кофеина в напитках. Однако способы модификации не лишены недостатков.

Зачастую этапы модификации электродных поверхностей трудоемки и сложны [9, 13-14, 16, 18, 23], что может привести к неудовлетворительной повторяемости токовых характеристик окисления кофеина и повлиять на результаты рутинного анализа. Помимо этого, многие модификаторы электродов являются дорогостоящими и малодоступными для большинства лабораторий [10-12, 15, 17, 19-22]. Модификатор должен обладать следующими свойствами: низкой стоимостью, совместимостью с электродным материалом и простотой процедуры получения модифицирующего слоя, влияющей на токи окисления кофеина. Ароматические соли диазония (**АСД**), по нашему мнению, полностью соответствуют предъявляемым выше требованиям для модификации углеродсодержащих электродов (**УСЭ**) и их применимость нуждается в проверке.

Цель работы – подобрать рабочие условия модификации углеродсодержащих электродов тозилатными солями арендизония (**АДТ**) для вольтамперометрического определения кофеина в тонирующих напитках.

Таблица 1

Химически модифицированные электроды для ВА определения кофеина и их аналитические характеристики

Table 1

Chemically modified electrodes for caffeine determination by voltammetry

Модификатор / Электроды	Линейный диапазон (мкМ)	Предел обнаружения (мкМ)	Объект исследования	Литература
ZnO-(4-амино-3-гидроксифенил-4-ил) акриловая кислота / УПЭ	-	0.056	Человеческая сыворотка крови, образцы мочи	[9]
MnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -N-легированные углеродные нанотрубки / СУЭ	1.0- 1100	0.83	Модельные растворы	[10]
Графен/Нафион композитная пленка / СУЭ	-	0.038	Фармацевтические препараты	[11]
Нафион / графитовые нанокатодные послойные пленки / кварцевые электроды или СУЭ	20-250 50-5000	0.032 24	Напитки	[12]
Нафион / СУЭ	63.1 - 600 7.5 - 200	18.9 2.2	Энергетические напитки	[13]
Углеродные нановолокна / СУЭ	0.2 - 1.0	0.056	Напитки	[14]
Пленка Bi / ГПЭ	0.1 - 20	0.027 0.09	Пробы окружающей среды Образцы воды	[15]
Поли (4-амино-3-гидрокси-нафталин-сульфо-кислота) / СУЭ	-	79	Чай Напитки Кока-кола	[16]
Наночастицы сульфида меди / УПЭ	2-120	0.018	Чай Кофе	[17]
Поли (нильский синий) / СУЭ	0.8 - 20	10	Фармацевтические препараты	[18]
Композит из поли (ализарин фиолетовый 3В), многослойные углеродные нанотрубки и графен / СУДЭ	1.0 - 120	10	Человеческая сыворотка крови	[19]
Наночастицы золота / СУПКЭ	25 - 150 200-1000	0.96 4.9	Кофеин содержащие напитки	[20]
Наночастицы золота, стабилизированные хитозаном / ЗЭ	2.0 - 50000	1.0	Кофеин содержащие напитки	[21]
Композит поли (L-аспарагиновой кислоты) / функционализированной многостенными углеродными нанотрубками / СУЭ	1 - 150	0.28	Зеленый чай Сыворотка крови Фармпрепараты	[22]
Лигнин / СУЭ	6 - 100	0.84	Кофе Разные сорта культивированного кофе	[23]

**Примечания:** СПЭ – свинцовый пленочный электрод, УПЭ – угольно-пастовый электрод, СУЭ – стеклоуглеродный электрод, СУДЭ – стеклоуглеродный дисковый электрод, СУПКЭ – стеклоуглеродный пастовый композитный электрод, ЗЭ – золотой электрод, ГПЭ – графитовый печатный электрод.

Выявлено, что спонтанный химический и электрохимический способы модификации УСЭ АДТ по-разному влияют на аналитический сигнал кофеина. Спонтанный химический способ модификации УСЭ АДТ позволяет определять кофеин в напитках с

большей чувствительностью и воспроизводимостью. Данный способ модификации УСЭ прост и экспрессен и заключается в простом погружении электрода в раствор модификатора.

## РЕАГЕНТЫ И АППАРАТУРА

### Объекты исследования

В работе использовали стандарт кофеина (Sigma Aldrich W222402) с содержанием целевого компонента  $\geq 99\%$ , АДТ со структурными формулами:  $\text{COOH-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ ,  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  (рис. 2) были синтезированы коллективом под руководством Трусовой М.Е. [8]. В качестве объектов анализа выбраны: безалкогольный напиток «Coca-Cola» (изготовитель «The Coca-Cola Company», США); энергетические напитки «Adrenaline Rush» (изготовитель ООО «Пепси Ко Холдингс», США); «Burn» (изготовитель «The Coca-Cola Company», США).

Растворы модификаторов готовили растворением навески АДТ в дистиллированной воде. Все исходные анализируемые пробы кофеинсодержащих напитков с содержанием кофеина выше  $150\text{ мг/дм}^3$  разбавляли водой в соотношении 2 : 1 (по объёму) для снижения влияния компонентов матрицы объекта анализа на токи окисления кофеина. В качестве фонового электролита использовали раствор  $0.05\text{ M H}_2\text{SO}_4$ .

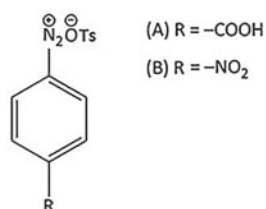


Рис. 2. Структурная формула тозилатных солей арендизония.

Fig. 2. Chemical structural formula of arendiazonium tosylate salts.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ВА определение кофеина проводили на анализаторе Та-Лаб («Томъаналит» г. Томск) в дифференциальном режиме регистрации анодных вольтамперограмм. УСЭ с обновляемой поверхностью представляет собой смесь 70 % полиэтилена высокого давления с 30 % технического углерода, запрессованную в трубку из полиэтилена низкого давления. Обновление поверхности электрода осуществляли удалением тонкого поверхностного слоя электрода специальным резакром. Вспомогательным электродом и электродом сравнения служили хлоридсеребряные электроды (ХСЭ).

Электрохимический способ модификации УСЭ заключался в наложении потенциала на рабочий электрод в режиме циклической вольтамперометрии (ЦВА) путем пятикратного циклирования в растворе модификатора ( $5\text{ мг/дм}^3$ ) в диапазоне потенциалов от  $-0.6\text{ В}$  до  $+1.8\text{ В}$  при скорости сканирования потенциала  $\nu = 80\text{ мВ/с}$ .

Спонтанный химический способ модификации поверхности электрода осуществляли погружением

электрода в растворы модификаторов различных концентраций на разное время, тем самым регулируя толщину слоя модификатора. Регистрацию электрохимического сигнала окисления кофеина проводили в диапазоне потенциалов от  $-0.6\text{ В}$  до  $+1.8\text{ В}$  при  $\nu = 80\text{ мВ/с}$ .

Исследования морфологии электродных поверхностей до и после модификации АДТ проводили с применением сканирующего (растрового) электронного микроскопа JEOL JSM-7500FA «Наноцентр» ТПУ.

Образцы исследовали при ускоряющем напряжении  $20\text{ кВ}$  в низком вакууме ( $6\text{ Па}$ ) в режиме обратно-рассеянных электронов. Состав электродных поверхностей после модификации АДТ был подтвержден методом ИК-спектроскопии с обратным Фурье-преобразованием. Для спектроскопического исследования поверхностей УСЭ применяли ИК-спектрометр «FTIR Cary 660» (производства Agilent Technologies, США) с использованием приставки нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) MIRacle™ Single Reflection Horizontal ATR Accessory (производства Pike technologies, США) с кристаллом селенида цинка ( $\text{ZnSe}$ ) в диапазоне волновых чисел от  $1000$  до  $4000\text{ см}^{-1}$ . Запись спектров стандартных веществ АДТ осуществляли в диске бромиды калия ( $\text{KBr}$ , Sigma).

Для расчета электроактивных площадей поверхностей УСЭ до и после модификации АДТ применяли метод ЦВА, расчет проводили по уравнению Рэндлса-Шевчика с учетом токов окисления ферроцианида калия:

$$I_p = 2.69 \cdot 10^5 n^{3/2} A_{\text{эфф}} D^{1/2} c \nu^{1/2}, \quad (1)$$

где:  $I_p$  – ток пика  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^-$ ;  $A$ ;  $n$  – число электронов ( $n = 1$ );  $A_{\text{эфф}}$  – площадь электроактивной поверхности,  $\text{см}^2$ ;  $D$  – коэффициент диффузии ( $7.60 \cdot 10^{-6}\text{ см}^2/\text{с}$ );  $c$  – концентрация  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  в растворе ( $1 \cdot 10^{-4}\text{ моль/см}^3$ );  $\nu$  – скорость сканирования потенциала,  $\text{В/с}$ .

Для оценки повторяемости аналитического сигнала кофеина на модифицированном электроде измеряли токи окисления по пять раз при концентрациях аналита  $50\text{ мг/дм}^3$ ,  $300\text{ мг/дм}^3$  и  $500\text{ мг/дм}^3$ . Воспроизводимость аналитического сигнала кофеина оценивали измерением токов окисления кофеина  $300\text{ мг/дм}^3$  на трех различных электродах, модифицированных в одинаковых условиях.

Для оценки стабильности работы модифицированного электрода проводили измерение токов окисления кофеина при концентрациях  $50\text{ мг/дм}^3$  и  $500\text{ мг/дм}^3$  каждый день в течение одной недели. Между измерениями хранения электрода осуществляли в фоновом электролите  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $0.05\text{ M}$ ).

Содержание кофеина определяли методом градуировочного графика с учетом разбавления. Для оценки правильности определения кофеина в кофеинсодержащих напитках по разработанной методике в качестве независимой была выбрана стандартизованная спектрофотометрическая методика [ГОСТ Р 51182-98 «Кофе, продукты. Методика



выполнения измерений массовой доли кофеина». Спектрофотометрические исследования проводили с использованием спектрофотометра Agilent Technologies Cary 60-UV-Vis. Спектрофотометрическая методика основана на способности кофеина поглощать излучение в ультрафиолетовой области спектра при длине волны  $\lambda = 272$  нм.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день существует два принципиальных подхода к модификации электродных поверхностей АСД: электрохимический [24] и спонтанный химический [25].

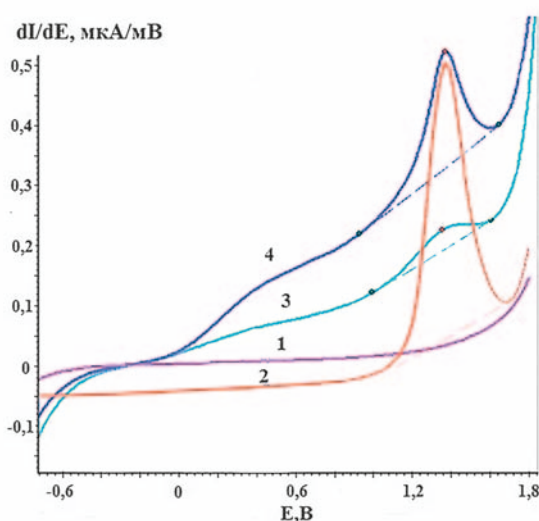
Электрохимическое восстановление АСД [26] является привлекательным методом, который был реализован для углеродных электродных материалов [27]. Однако вопрос регулирования толщины слоя органического модификатора с сохранением токопроводящих свойств электрода является дискуссионным, так как в большинстве случаев электрохимическая модификация при наложении потенциала приводит к быстрому образованию полислоя АСД, который снижает активность электродной поверхности.

Известны работы по спонтанной химической модификации углеродсодержащих электродов тетрафторборатами арилдиазония  $\text{ArN}_2^+\text{BF}_4^-$  [28–30]. Тем не менее, применение данных солей для модификации электродов осложнено слабой растворимостью указанных солей в водных раство-

рах, токсичностью и нестабильностью растворов модификаторов.

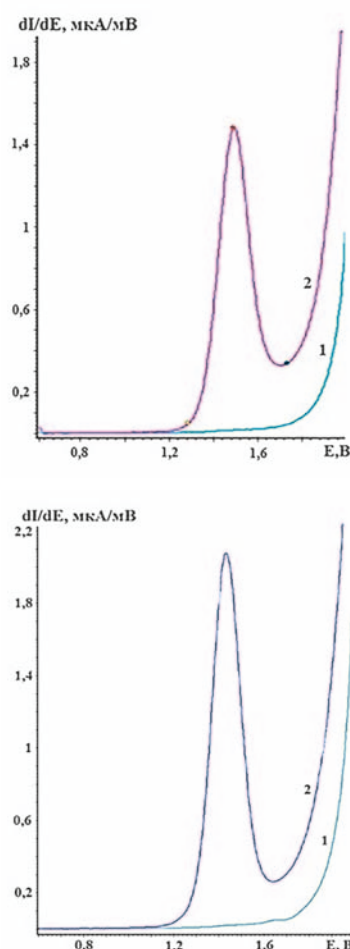
В данной работе впервые проведено сравнение спонтанного химического и электрохимического способов модификации УСЭ АДТ с нитро- и карбоксизаместителями для ВА определения кофеина в напитках. Новый класс АСД обладает хорошей растворимостью, стабильностью в течение одного месяца, что играет немаловажную роль в процессе модификации поверхностей электродов [31].

На рис. 3 изображены анодные ВА кофеина на модифицированных АДТ УСЭ электрохимическим способом. Очевидно, что электрохимический способ с наложением потенциалов на электрод в диапазоне  $-0.6$  В до  $+1.8$  В приводит к быстрому росту пленки модификатора, препятствующей переносу электрона между поверхностью электрода и анализируемым веществом. В результате происходит пассивация



**Рис. 3.** Дифференциальные анодные ВА первого порядка 50 моль/дм<sup>3</sup> кофеина на УСЭ (кривая 2), электрохимически модифицированных  $\text{COOH-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ -УСЭ (кривая 3) и  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ -УСЭ (кривая 4) на фоне 0.05 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (кривая 1).  $\nu = 80$  мВ/с.

**Fig. 3.** First order derivative anodic voltammograms of 50 mol/dm<sup>3</sup> caffeine on CCE (curve 2), electrochemically modified  $\text{COOH-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ -CCE (curve 3) and  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ -CCE (curve 4) in 0.05 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (curve 1).  $\nu = 80$  mV/s.



**Рис. 4.** Дифференциальные анодные ВА первого порядка 50 моль/дм<sup>3</sup> кофеина на УСЭ (кривая 2), электрохимически модифицированных  $\text{COOH-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ -УСЭ (а) и  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ -УСЭ (б) на фоне 0.05 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (кривая 1).  $\nu = 80$  мВ/с.

**Fig. 4.** First order derivative anodic voltammograms of 50 mol/dm<sup>3</sup> caffeine on CCE (a), electrochemically modified  $\text{COOH-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ -CCE (b) and  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ -CCE (curve 4) in 0.05 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (curve 1).  $\nu = 80$  mV/s.

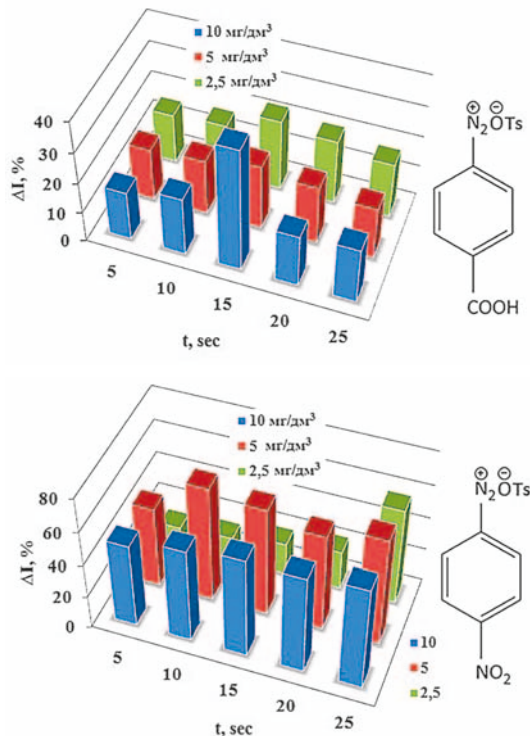
поверхности УСЭ и снижение токов электроокисления кофеина.

На рис. 4 представлены анодные ВА кофеина на УСЭ модифицированных АДТ спонтанным химическим способом. Наибольшее значение аналитических сигналов окисления кофеина наблюдали на УСЭ, модифицированных АДТс  $\text{NO}_2$ -заместителем (рис. 4, б). В случае использования АДТс  $\text{NO}_2$ -заместителем ток окисления кофеина выше на 28.6 % по сравнению с немодифицированным и модифицированным методом ЦВА УСЭ.

При спонтанном химическом способе модификации УСЭ возможно регулировать толщину модификатора на электроде и влиять, таким образом, на величину аналитического сигнала электроокисления кофеина за счёт изменения времени модификации (секунды) и концентрации растворов модификаторов АДТ ( $\text{мг/дм}^3$ ). В качестве рабочих растворов АДТ для модификации УСЭ выбраны растворы следующих концентраций: 2.5, 5 и 10  $\text{мг/дм}^3$ . Время выдерживания УСЭ в растворах модификаторов составляло 5, 10, 15, 20 и 25 с.

На рис. 5, а и б представлены гистограммы зависимости изменения токов окисления кофеина ( $\Delta I$ , %) на УСЭ, модифицированных АДТ с  $\text{COOH}$ - и  $\text{NO}_2$ -заместителями от времени модификации при разных концентрациях модификатора в растворе:

$$\Delta I = (I_0 - I) \cdot 100 / I_0 (\%), \quad (2)$$



**Рис. 5.** Влияние времени модификации УСЭ  $\text{COOH-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  (а) и  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  (б) на токи окисления 50 моль/ $\text{дм}^3$  кофеина.

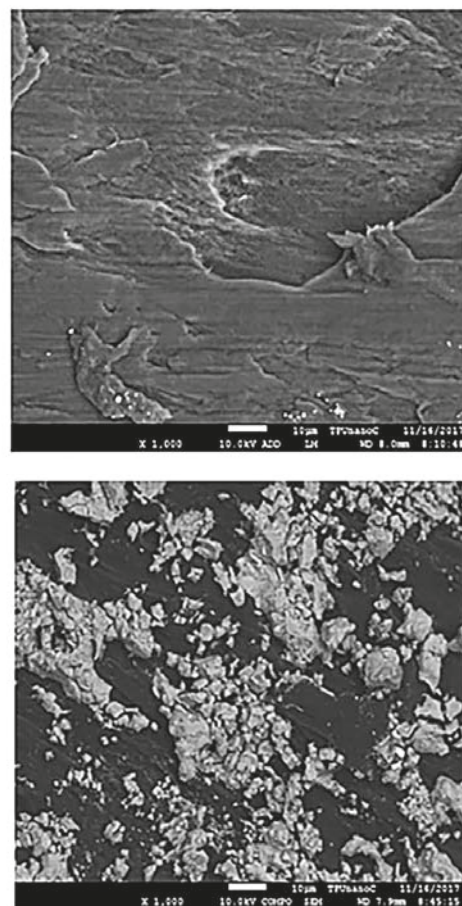
**Fig. 5.** Effect of CCE modification time with  $\text{COOH-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  (a) and  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  (b) on 50 mol/ $\text{дм}^3$  of caffeine.

где  $I_0$  – ток окисления кофеина на УСЭ без модификатора (0.48 мкА);  $I$  – ток окисления кофеина на УСЭ с модификатором, мкА.

Согласно рис. 5 установлено, что для ВА определения кофеина на УСЭ в качестве модификатора необходимо использовать АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем, время выдерживания УСЭ 10 с. в растворе модификатора (5  $\text{мг/дм}^3$ ).

По данным рис. 5 очевидно, что природа заместителя в  $\text{л-}$ положении бензольного кольца модификатора влияет на токопроводящие свойства УСЭ и величину тока окисления кофеина. Вероятно, это связано со скоростью роста АДТ на углеродной подложке УСЭ. В случае АДТ с  $\text{COOH}$ -заместителем происходит быстрый рост полислоёв модификатора, частично блокирующих поверхность электрода, по сравнению с АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем.

Для подтверждения наличия модификатора на поверхности УСЭ после спонтанного химического способа модификации были исследованы поверхности электродов методом сканирующей электронной



**Рис. 6.** Морфология поверхности УСЭ (а) и УСЭ, модифицированного  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  по данным сканирующей электронной микроскопии. Концентрация модификатора 5  $\text{мг/л}$ , время модификации 10 с.

**Fig. 6.** Surface morphology of CCE (a) and CCE modified with  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  (b) by scanning electron microscopy. Modifier concentration is 5  $\text{мг/л}$ , modification time is 10 s.

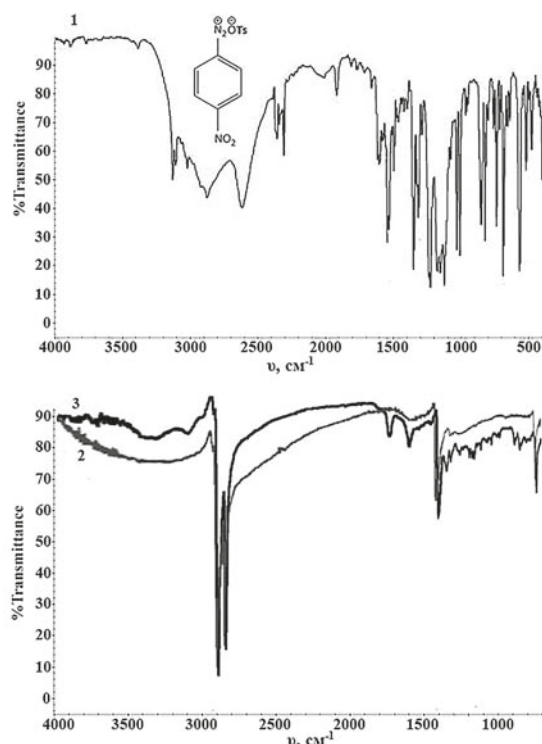


Рис. 7. ИК-спектры  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  (1) и поверхности УСЭ до (2) и после (3) модификации.

Fig. 7. IR-spectra of  $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$  (1) and CCE surface before (2) and after (3) modification.

микроскопии. Первый образец представлял собой поверхность чистого УСЭ. На поверхности образца наблюдали выборочную микропористость (рис. 6, а). На микроскопическом снимке (рис. 6, б) наблюдали слоистые агрегаты неправильной формы, подтверждающие наличие модификатора АДТ на поверхности электрода. Это указывает на то, что модификатор прочно закреплен на поверхности УСЭ. Очевидно, что ковалентная модификация УСЭ возможна и без наложения потенциала в очень короткий промежуток времени.

На рис. 7 представлены результаты ИК-спектроскопического исследования электродных поверхностей и соли АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем. В ИК-спектре модификатора (верхний спектр) наблюдали полосы при  $2308\text{ см}^{-1}$   $\text{N}^{2+}$  соли арилдиазония,  $1480\text{-}1350\text{ см}^{-1}$  ассиметричное колебание группы  $\text{-NO}_2$ , также отмечали отчетливый пик в диапазоне  $3326\text{ см}^{-1}$ , связанный с валентным колебанием  $\text{=CH}$ . В области  $2926\text{ см}^{-1}$  и  $860\text{ см}^{-1}$  наблюдаются валентные и деформационные колебания  $\text{-CH}$ , принадлежащей ароматическому кольцу.

В ИК-спектре поверхности УСЭ (нижний спектр) до модификации наблюдали 3 полосы поглощения с волновыми числами равными  $720\text{ см}^{-1}$ ,  $1453\text{ см}^{-1}$  и  $2911\text{ см}^{-1}$ . Данные полосы предположительно соответствуют валентным колебаниям связей  $\text{-C-C}$ , стабилизирующей добавки полиэтилена и связей  $\text{-CH}_2\text{-}$ , соответственно.

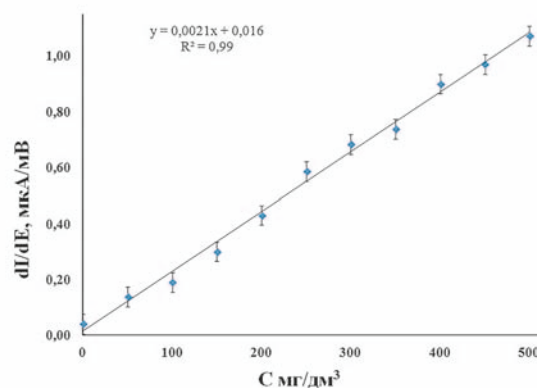


Рис. 8. Градуировочный график для определения кофеина в модельных растворах.

Fig. 8. Calibration curve of caffeine in model media.

После модификации электродной поверхности (спектр 3) помимо характеристических полос УСЭ наблюдали полосы в области  $1480\text{-}1350\text{ см}^{-1}$ , соответствующие ассиметричному колебанию  $\text{NO}_2$  АДТ и отсутствие полосы  $2308\text{ см}^{-1}$   $\text{N}^{2+}$  соли АДТ. Полученные результаты свидетельствует о том, что прошел процесс спонтанной химической модификации с образованием ковалентной связи между атомами углерода электродной поверхности и бензольным кольцом модификатора.

После подбора условий модификации УСЭ АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем отмечен рост токопроводящих свойств электродной поверхности. Рассчитанные площади электроактивных поверхностей электродов до и после модификации в соответствии с уравнением Рэндалса-Шевчика составили  $0.036$  и  $0.062\text{ см}^2$  соответственно. Таким образом, в результате спонтанной химической модификации УСЭ АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем площадь электроактивной поверхности увеличивается почти в два раза, что приводит к увеличению аналитического сигнала электроокисления кофеина.

Для апробации пригодности УСЭ, модифицированного АДТ с  $\text{NO}_2$ -заместителем, проведено определение кофеина в модельных растворах. Градуировочный график для определения кофеина в модельных растворах представлен на рис. 8. Диапазон определяемых содержаний кофеина составил  $154\text{-}500\text{ мг/дм}^3$ . Предел обнаружения кофеина, рассчитанный по  $3s$ -критерию составил  $51\text{ мг/дм}^3$ . Для оценки влияния сопутствующих компонентов объектов анализа на ток электроокисления кофеина использовали глюкозу, фруктозу, сахарин, карбонат натрия, лимонную и аскорбиновую кислоты. Результаты показали, что 100-кратный избыток этих компонентов в модельных растворах не оказал существенного влияния на пик тока электроокисления кофеина.

Показаны стабильные результаты регистрации токов окисления кофеина ( $50\text{ мг/дм}^3$ ) в период одной недели с относительным стандартным отклонением  $\pm 2.8\%$  при применении УСЭ, модифицирован-



Таблица 2

Результаты определения кофеина в напитках ВА и спектрофотометрическим методами ( $n = 6$ ,  $p = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.45$ ,  $F = 4.28$ )

Table 2

Results of the caffeine determination in beverages by VA and spectrophotometric methods ( $n = 6$ ,  $p = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.45$ ,  $F = 4.28$ )

Объект исследования	Заявлено производителем мг/дм <sup>3</sup>	Найдено кофеина, мг/дм <sup>3</sup>		$t_{\text{эксп.}}$	$F$
		Метод ВА	Спектрофотометрический метод ГОСТ Р 51182-98		
Напиток сильногазированный «Кока-кола»	150	140 ± 18	*	–	–
Энергетический напиток «Adrenaline Rush»	300	320 ± 51	370 ± 33	2.3	1.54
Энергетический напиток «Burn»	300	263 ± 39	298 ± 26	2.1	0.037

**Примечание:** \* – невозможность проведения анализа из-за интенсивного окрашивания раствора пробы, насыщенный пурпурный цвет после экстрагирования.

ного АДТ с NO<sub>2</sub>-заместителем. Время анализа с использованием модифицированного электрода составило 15 минут.

Проведено сравнение результатов определения кофеина в напитках ВА и спектрофотометрическим методами (табл. 2). Полученные значения содержания кофеина в напитках разработанным методом с использованием УСЭ, модифицированного спонтанным химическим способом АДТ с NO<sub>2</sub>-заместителем, наглядно демонстрируют соответствие значениям, заявленным производителем, а также согласуются с результатами независимого спектрофотометрического метода.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

УСЭ, модифицированный АДТ с NO<sub>2</sub>-заместителем спонтанным химическим способом, для ВА определения кофеина в тонизирующих напитках обладает лучшими аналитическими характеристиками по сравнению с немодифицированным УСЭ.

По сравнению с другими органическими модификаторами АДТ с NO<sub>2</sub>-заместителем является недорогим и стабильным веществом для простого и экспрессного способа модификации УСЭ, что сокращает время анализа кофеина до 15 минут. В оптимальных условиях модификации УСЭ АДТ с NO<sub>2</sub>-заместителем на поверхности электрода образуются прочные и тонкие токопроводящие пленки, увеличивающие его электроактивную поверхность и улучшающие чувствительность определения кофеина. Показана возможность использования УСЭ, модифицированного АДТ с NO<sub>2</sub>-заместителем, для ВА определения кофеина в тонизирующих напитках в диапазоне концентраций 154–500 мг/дм<sup>3</sup> в течение одной недели без предварительного обновления поверхности электрода.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и ЧНФ в рамках научного проекта № 19-53-26001.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Current study was funded by RFBR and Czech Science Foundation according to the research project № 19-53-26001.

## ЛИТЕРАТУРА

- Cauli O., Morelli M. Caffeine and the dopaminergic system // *Behav. Pharmacol.* 2005. V. 16, № 2. P. 63-77.
- Heaney R. P. Effects of caffeine on bone and the calcium economy // *Food Chem. Toxicol.* 2002. V. 40, № 9. P. 1263-1270.
- Knight C. A., Knight I., Mitchell D. C. and Zepp J. E. Beverage caffeine intake in US consumers and subpopulations of interest: estimates from the Share of Intake Panel survey // *Food Chem. Toxicol.* 2004. V. 42, № 12. P. 1923-1930.
- Hillel B., Hugh C. Rapid Analysis of Caffeinated Energy Drinks by HPLC on Ascentis Express // *Reporter US.* 2011. V. 28.4. P. 1-4.
- Bhawani S. A., Fong S. S., Ibrahim M. N. Spectrophotometric Analysis of Caffeine // *International J. Anal. Chem.* V. 2015, Article ID 170239. P. 1-7.
- Emre D., Ozaltin N. Simultaneous determination of paracetamol, caffeine and propyphenazone in ternary mixtures by micellar electrokinetic capillary chromatography // *J. Chromatogr. B.* 2007. V. 847, № 2. P. 126-132.
- Oren T., Anik U. Carboxylic acid functionalized multi-walled carbon nanotubes assisted centri-voltammetry as a new approach for caffeine detection // *New J. Chem.* 2013. V. 41, № 20. P. 11800-11806.
- A simple and effective synthesis of aryl azides via arenediazonium tosylates / [K.V. Kutonova et al.] // *Synthesis.* 2013. V. 45, № 19, P. 2706-2710.



9. Molaakbari E., Mostafavi A., Beitollahi H. Simultaneous electrochemical determination of dopamine, melatonin, methionine and caffeine // *Sens. Actuators B*. 2015. V. 208. P. 195-203.
10.  $\text{MnFe}_2\text{O}_4\text{@CNT-N}$  as novel electrochemical nanosensor for determination of caffeine, acetaminophen and ascorbic acid / D.M. Fernandes [et al.] // *Sens. Actuators B*. 2015. V. 218. P. 128-136.
11. Graphene / Nafion composite film modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of paracetamol, aspirin and caffeine in pharmaceutical formulations / A. Yiğita [et al.] // *Talanta*. 2016. V. 158. P. 21-29.
12. Voltammetric detection of caffeine in beverages at nafion / graphite nanoplatelets layer-by-layer films / S. Hernandez-Aldave [et al.] // *Nanomaterials*. 2019. V. 9, № 221. P. 1-20.
13. Simultaneous determination of caffeine and pyridoxine in energy drinks using differential pulse voltammetry at glassy carbon electrode modified with nafion / A.S. Farag [et al.] // *Electroanalysis*. 2019. V. 31. P. 1-7.
14. Tyszczyk-Rotko K., Pietrzak K., Sasal A. Adsorptive stripping voltammetric method for the determination of caffeine at integrated three-electrode screen-printed sensor with carbon / carbon nanofibers working electrode // *Adsorption*. 2019. V. 25. P. 913-921.
15. Tyszczyk-Rotko K., Szlagiński A. Green electrochemical sensor for caffeine determination in environmental water samples: the bismuth film screen-printed carbon electrode // *J. Electrochem. Soc.* 2017. V. 164, № 7. P. 342-348.
16. Simultaneous determination of caffeine and paracetamol by square wave voltammetry at poly (4-amino-3-hydroxynaphthalene sulfonic acid)-modified glassy carbon electrode / M. Tefera [et al.] // *Food Chem.* 2016. V. 210. P. 156-162.
17. Sensitive determination of caffeine by copper sulphide nanoparticles modified carbon paste electrode / M. Mahanthappa [et al.] // *Sens. Actuators, A*. 2016. V. 248. P. 104-113.
18. Chitravathi S., Munichandraiah N. Voltammetric determination of paracetamol, tramadol and caffeine using poly(Nile blue) modified glassy carbon electrode // *J. Electroanal. Chem.* 2016. V. 764. P. 93-103.
19. Simultaneous determination of acetaminophen, theophylline and caffeine using a glassy carbon disk electrode modified with a composite consisting of poly (Alizarin Violet 3B), multiwalled carbon nanotubes and graphene / Y. Wang [et al.] // *Microchim. Acta*. 2016. V. 183. P. 731-739.
20. Ören T., Anik Ü. Voltammetric determination of caffeine by using gold nanoparticle-glassy carbon paste composite electrode // *Measurement*. 2017. V. 106. P. 26-30.
21. Selective electrochemical determination of caffeine at a gold-chitosan nanocomposite sensor: May little change on nanocomposites synthesis affect selectivity / A. Trani [et al.] // *J. Electroanal. Chem.* 2017. V. 788. P. 99-106.
22. Simultaneous determination of caffeine and theophylline using square wave voltammetry at poly (L-aspartic acid) / functionalized multi-walled carbon nanotubes composite modified electrode / B.S. Mekassa [et al.] // *Sensing and Bio-Sensing Research*. 2017. V. 16. P. 46-54.
23. Amare M., Aklog S. Electrochemical determination of caffeine content in ethiopian coffee samples using lignin modified glassy carbon electrode // *J. Anal. Methods Chem.* V. 2017. P. 1-8.
24. Harnisch J.A., Gazda D.B., Andereg J. W., Porter M. D. Chemical modification of carbonaceous stationary phases by the reduction of diazonium salts // *Anal. Chem.* 2001. V. 73, № 16. P. 3954-3959.
25. Chamoulaud G., Bélanger D. Spontaneous derivatization of a copper electrode with in situ generated diazonium cations

- in aprotic and aqueous media // *J. Phys. Chem. C*. 2007. V. 111, № 20. P. 7501-7507.
26. Downard A. J. Potential-dependence of self-limited films formed by reduction of aryl diazonium salts at glassy carbon electrodes // *Langmuir*. 2000. V. 16, № 24. P. 9680-9682.
27. Electrochemical functionalization of nanotube films: growth of aryl chains on single-walled carbon nanotubes / P.R. Marcoux [et al.] // *New J. Chem.* 2004. V. 28. P. 302-307.
28. Berger F., Delhalle J., Mekhalif Z. Hybrid coating on steel: ZnNi electrodeposition and surface modification with organothiols and diazonium salts // *Electrochim. Acta*. V. 53, № 6, P. 2852-2861.
29. Anariba F., DuVall S. H., McCreery R. L. Mono- and multilayer formation by diazonium reduction on carbon surfaces monitored with atomic force microscopy "Scratching" // *Anal. Chem.* 2003. V. 75, № 15. P. 3837-3844.
30. Kariuki J. K., McDermott M. T. Nucleation and growth of functionalized aryl films on graphite electrodes // *Langmuir*. 1999. V. 15, № 19. P. 6534-6540.
31. Kariuki J. K., McDermott M. T. Formation of multilayers on glassy carbon electrodes via the reduction of diazonium salts // *Langmuir*. 2001. V. 17, № 19. P. 5947-5951.

## REFERENCES

1. Cauli O., Morelli M. Caffeine and the dopaminergic system. *Behav. Pharmacol.*, 2005, vol. 16, no. 2, pp. 63-77. doi: 10.1097/00008877-200503000-00001.
2. Heaney R. P. Effects of caffeine on bone and the calcium economy. *Food Chem. Toxicol.*, 2002, vol. 40, no. 9, pp. 1263-1270. doi: 10.1016/S0278-6915(02)00094-7.
3. Knight C. A., Knight I., Mitchell D. C. and Zepp J. E. Beverage caffeine intake in US consumers and subpopulations of interest: estimates from the Share of Intake Panel survey. *Food Chem. Toxicol.*, 2004, vol. 42, no. 12, pp. 1923-1930. doi: 10.1016/j.fct.2004.05.002.
4. Hillel B., Hugh C. Rapid Analysis of Caffeinated Energy Drinks by HPLC on Ascentis Express, *Reporter US*. 2011. vol. 28.4, pp. 1-4.
5. Bhawani S. A., Fong S. S., Ibrahim M. N. Spectrophotometric Analysis of Caffeine. *International J. Anal. Chem.*, vol. 2015, Article ID 170239, pp. 1-7. doi: 10.1155/2015/170239.
6. Emre D., Ozaltin N. Simultaneous determination of paracetamol, caffeine and propyphenazone in ternary mixtures by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr. B*, 2007, vol. 847, no. 2, pp. 126-132. doi: 10.1016/j.jchromb.2006.09.036.
7. Ören T., Anik U. Carboxylic acid functionalized multi-walled carbon nanotubes assisted centri-voltammetry as a new approach for caffeine detection. *New J. Chem.*, 2013, vol. 41, no. 20, pp. 11800-11806. doi: 10.1039/c7nj02506h.
8. Kutonova K.V., Trusova M. E., Postnikov P. S., Filimonov V. D., Parelo J. A simple and effective synthesis of aryl azides via arenediazonium tosylates. *Synthesis*, 2013, vol. 45, no. 19, pp. 2706-2710. doi: 10.1055/s-0033-1339648.
9. Molaakbari E., Mostafavi A., Beitollahi H., Simultaneous electrochemical determination of dopamine, melatonin, methionine and caffeine. *Sens. Actuators, B*, 2015, vol. 208, pp. 195-203. doi: 10.1016/j.snb.2014.10.130.
10. Fernandes D. M., Silva N., Pereira C. et al.  $\text{MnFe}_2\text{O}_4\text{@CNT-N}$  as novel electrochemical nanosensor for determination of caffeine, acetaminophen and ascorbic acid. *Sens. Actuators B*, 2015, vol. 218, pp. 128-136. doi: 10.1016/j.snb.2015.05.003.
11. Yiğita A., Yardıma Y., Çelebib M., Leventc A., Şentürkd Z. Graphene / Nafion composite film modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of paracetamol,

- aspirin and caffeine in pharmaceutical formulations. *Talanta*, 2016, vol. 158, pp. 21-29. doi: 10.1016/j.talanta.2016.05.046.
12. Hernandez-Aldave S., Tarat A., McGettrick J. D., Bertoncello P. Voltammetric detection of caffeine in beverages at nafion / graphite nanoplatelets layer-by-layer films. *Nanomaterials*, 2019, vol. 9, no. 221, pp. 1-20. doi:10.3390/nano9020221
  13. Farag A. S., Pravcová K., Česlová L., Vytřas K., Sýs M. Simultaneous determination of caffeine and pyridoxine in energy drinks using differential pulse voltammetry at glassy carbon electrode modified with nafion. *Electroanalysis*, 2019, vol. 31, pp. 1-7. doi: 10.1002/elan.201800646.
  14. Tyszczyk-Rotko K., Pietrzak K., Sasal A. Adsorptive stripping voltammetric method for the determination of caffeine at integrated three-electrode screen-printed sensor with carbon / carbon nanofibers working electrode. *Adsorption*, 2019, vol. 25, pp. 913-921. doi: 10.1007/s10450-019-00116-3.
  15. Tyszczyk-Rotko K., Szwagierek A. Green electrochemical sensor for caffeine determination in environmental water samples: the bismuth film screen-printed carbon electrode. *J. Electrochem. Soc.*, 2017, vol. 164, no. 7, pp. 342-348. doi: 10.1149/2.0571707jes.
  16. Tefera M., Geto A., Tessema M., Admassie S. Simultaneous determination of caffeine and paracetamol by square wave voltammetry at poly (4-amino-3-hydroxynaphthalene sulfonic acid)-modified glassy carbon electrode. *Food Chem.*, 2016, vol. 210, pp. 156-162. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.04.106.
  17. Mahanthappa M., Yellappa S., Kottam N., Rao Vusa C.S. Sensitive determination of caffeine by copper sulphide nanoparticles modified carbon paste electrode. *Sens. Actuators, A*, 2016, vol. 248, pp. 104-113. doi: 10.1016/j.sna.2016.07.013.
  18. Chitravathi S., Munichandraiah N. Voltammetric determination of paracetamol, tramadol and caffeine using poly (Nile blue) modified glassy carbon electrode. *J. Electroanal. Chem.*, 2016, vol. 764, pp. 93-103. doi: 10.1016/j.jelechem.2016.01.021.
  19. Wang Y., Wu T., Bi C-Y. Simultaneous determination of acetaminophen, theophylline and caffeine using a glassy carbon disk electrode modified with a composite consisting of poly (Alizarin Violet 3B), multiwalled carbon nanotubes and graphene. *Microchim. Acta*, 2016, vol. 183, pp. 731-739. doi: 10.1007/s00604-015-1688-0.
  20. Ören T., Anik Ü. Voltammetric determination of caffeine by using gold nanoparticle-glassy carbon paste composite electrode. *Measurement*, 2017, vol. 106, pp. 26-30. doi: 10.1016/j.measurement.2017.04.031.
  21. Trani A., Petrucci R., Marrosu G., Zane D., Curulli A. Selective electrochemical determination of caffeine at a gold-chitosan nanocomposite sensor: May little change on nanocomposites synthesis affect selectivity. *J. Electroanal. Chem.*, 2017, vol. 788, pp. 99-106. doi: 10.1016/j.jelechem.2017.01.049.
  22. Mekassa B., Tessema M., Chandravanshi B. S. Simultaneous determination of caffeine and theophylline using square wave voltammetry at poly (L-aspartic acid) / functionalized multi-walled carbon nanotubes composite modified electrode. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 2017, vol. 16, pp. 46-54. doi: 10.1016/j.sbsr.2017.11.002.
  23. Amare M., Aklog S. Electrochemical determination of caffeine content in ethiopian coffee samples using lignin modified glassy carbon electrode. *J. Anal. Methods Chem.* vol. 2017, pp. 1-8. doi: 10.1155/2017/3979068.
  24. Harnisch J. A., Gazda D. B., Anderegg J. W., Porter M. D. Chemical modification of carbonaceous stationary phases by the reduction of diazonium salts. *Anal. Chem.*, 2001, vol. 73, no. 16, pp. 3954-3959. doi:10.1021/ac010398x.
  25. Chamoulaud G., Bélanger D. Spontaneous derivatization of a copper electrode with in situ generated diazonium cations in aprotic and aqueous media. *J. Phys. Chem. C*, 2007, vol. 111, no. 20, pp. 7501-7507. doi: 10.1021/jp0704012.
  26. Downard A. J. Potential-dependence of self-limited films formed by reduction of aryl diazonium salts at glassy carbon electrodes. *Langmuir*, 2000, vol. 16, no. 24, pp. 9680-9682. doi: 10.1021/la000866i.
  27. Marcoux P. R., Hapiot P., Batail P., Pinson J. Electrochemical functionalization of nanotube films: growth of aryl chains on single-walled carbon nanotubes. *New J. Chem.*, 2004, vol. 28, pp. 302-307. doi: 10.1039/B309509F.
  28. Berger F., Delhalle J., Mekhalif Z. Hybrid coating on steel: ZnNi electrodeposition and surface modification with organothiols and diazonium salts. *Electrochim. Acta*, vol. 53, no. 6, pp. 2852-2861. doi: 10.1016/j.electacta.2007.10.067.
  29. Anariba F., DuVall S. H., McCreery R. L. Mono- and multilayer formation by diazonium reduction on carbon surfaces monitored with atomic force microscopy "Scratching". *Anal. Chem.* 2003, vol. 75, no. 15, pp. 3837-3844. doi: 10.1021/ac034026v.
  30. Kariuki J. K., McDermott M. T. Nucleation and growth of functionalized aryl films on graphite electrodes. *Langmuir*, 1999, vol. 15, no. 19, pp. 6534-6540. doi:10.1021/la990295y.
  31. Kariuki J. K., McDermott M. T. Formation of multilayers on glassy carbon electrodes via the reduction of diazonium salts. *Langmuir*, 2001, vol. 17, no. 19, pp. 5947-5951. doi:10.1021/la010415d.